



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(5) Classification internationale des brevets 5 :  
C07K 7/06, 15/06, A61K 39/42  
C07K 15/00, 7/08, A61K 37/02  
A61K 39/21

(11) Numéro de publication internationale: WO 94/03487

(43) Date de publication internationale: 17 février 1994 (17.02.94)

A1

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR93/00803

(22) Date de dépôt international: 10 août 1993 (10.08.93)

(30) Données relatives à la priorité:  
92/09884 10 août 1992 (10.08.92) FR  
93/01628 12 février 1993 (12.02.93) FR

(71/72) Déposant et inventeur: ZAGURY, Jean-François (FR/  
FR); 117, rue Vaille-de-Temple, F-75003 Paris (FR).

(74) Mandataire: RINUY, SANTARELLI; 14, avenue de la  
Grande-Armée, F-75007 Paris (FR).

Publiée  
Avec rapport de recherche internationale.  
Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
renseignements, sera republiée si de telles modifications sont  
requises.

(81) États désignés: AT, AU, BR, BG, BR, BY, CA, CH, CZ,  
DE, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KR, KZ, LK, LU,  
MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE,  
SK, UA, US, VN, brevet européen (AT, BE, CH, DE,  
DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE),  
brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Titre: NEW PEPTIDES, ANTIBODIES RAISED AGAINST PEPTIDES AND MEANS FOR BLOCKING SAID ANTI-  
BODIES, APPLICATION AS MEDICAMENTS, PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND UTILIZATION  
METHODS

(54) Titre: NOUVEAUX PEPTIDES, ANTICORPS DIRIGES CONTRE CES PEPTIDES ET MOYENS DE BLOCAGE DE  
CES ANTICORPS, APPLICATION A TITRE DE MEDICAMENTS, COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES  
ET METHODES D'UTILISATION

(57) Abstract

Monomer peptide recognized by a humoral or cellular immune response introducing an auto-immune reaction in subjects  
infected by HIV-1 or 2, characterized in that it is selected in the group comprised particularly of SLWDQ, SLWDQSLK and DI-  
SLWDQSLK, and in that it has, if desired, on the N terminal and C terminal side, from 1 to 5 other amino acids in a peptide  
chain, and its multimers in linear sequence comprising from 2 to 6 monomer units, peptide, modified protein or protein fragment  
containing said peptide, peptide adjuvant to said peptide, antibody, antidiotype antibody, medicament containing them and  
methods for treating AIDS.

(57) Abstré

Peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune  
chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué notamment par SLWDQ,  
SLWDQSLK et DISLWDQSLK et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés  
en enchaînement peptidique, ainsi que ses multimères en séquence linéaire comportant de 2 à 6 unités monomères, peptide, frag-  
ment de protéine ou protéine modifiée renfermant ledit peptide, peptide adjuvant audit peptide, anticorps, anticorps anti-idiotypique  
médicament les renfermant et méthodes de lutte contre le SIDA.

BEST AVAILABLE COPY

WO 94/03487

PCT/FR93/00803

1

Nouveaux peptides, anticorps dirigés contre ces  
peptides et moyens de blocage de ces anticorps, application  
à titre de médicaments, compositions pharmaceutiques et  
méthodes d'utilisation.

La présente demande concerne de nouveaux pepti-  
des, des anticorps dirigés contre ces peptides et des moyens  
de blocage de ces anticorps, leur application à titre de  
médicaments, des compositions pharmaceutiques et des méthodes  
d'utilisation de ces produits.

On a identifié des séquences peptidiques parta-  
gées par le virus VIH-1 et des molécules autologues (du soi),  
et contre lesquelles existe une réaction immunitaire chez les  
individus infectés par le VIH-1. Cette réaction immunitaire  
est donc auto-immune car dirigée contre des épitopes du soi,  
et permet d'expliquer le développement de la maladie et la  
déréglement immunitaire observée au cours de l'infection par  
le VIH-1. La définition de ces peptides identifiés grâce à  
une stratégie informatique particulière permet le développe-  
ment de stratégies prophylactiques et thérapeutiques contre  
le SIDA qui sont l'objet principal de la présente demande.

Le système immunitaire se présente sous deux  
aspects fonctionnels : l'immunité non spécifique et l'immu-  
nité spécifique, dite encore à mémoire. L'immunité non  
spécifique consiste en une première ligne de défense, capable  
d'arrêter la plupart des agents pathogènes avant que ne  
s'établisse une véritable infection. Les mécanismes de  
l'immunité spécifique entrent ensuite en action. Ils déclen-  
chent une réaction dirigée spécifiquement contre le germe  
responsable, entraînant sa destruction. D'une manière  
générale et schématique, il existe deux grands types de  
réponse immunitaire spécifique : la réponse de type humoral  
qui est caractérisée par la production d'anticorps par les  
lymphocytes B et la réponse immunitaire à médiation cellu-  
laire qui met en jeu des cellules effectrices, c'est à dire  
essentiellement les lymphocytes T8 (lymphocytes cytotoxi-  
ques). Ces réponses sont initialement activées par les

2

cellules présentatrices d'antigènes et modulées par les cellules régulatrices, c'est à dire les lymphocytes T4 (lymphocytes T auxiliaires) et les lymphocytes T suppressors.

5 Dans ses très grandes lignes, la réponse immunitaire spécifique fonctionne comme suit:

- Les cellules présentatrices d'antigène appelées APC (monocytes, macrophages et lymphocytes B) capturent l'antigène, le digèrent et exposent des fragments de cet antigène "digéré" à leur surface, en association avec des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I ou II. (CMH1 ou CMH2).

15 - Quand les lymphocytes T4 "voient" les fragments d'antigènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité de classe II, ils prolifèrent, passent sous forme activée (et notamment synthétisent de l'IL-2). Ce passage à l'état activé dépend essentiellement d'interactions moléculaires fines entre les 3 molécules CD4, CMH, et récepteurs des cellules T (TCR). Les lymphocytes T stimulent alors la prolifération des lymphocytes B producteurs d'anticorps et celle des lymphocytes T8 (lymphocytes cytotoxiques ou CTL) grâce à des facteurs tels que IL2 ou IFN gamma, le tout étant régulé par d'autres facteurs tels que l'IFN alpha.

25 - Les lymphocytes B produisent des anticorps qui vont interagir avec les antigènes circulants de manière à les neutraliser.

- Les lymphocytes T8 détruisent les cellules infectées quand ils reconnaissent les fragments d'antigènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH1).

30 Comme on le voit la réponse immunitaire est faite d'une cascade d'événements impliquant :

- des facteurs sécrétés comme par exemple les cytokines (interleukines, interférons, etc...) et leurs récepteurs membranaires,

35 - des molécules de surface des cellules servant à leurs interactions comme par exemple la molécule CD4 ou le CMH 1 ou

3

2 ou les adhésines (LFA 1, etc...).

5 - des molécules de surface des cellules servant à induire des signaux de régulation cellulaire soit par liaison avec des facteurs sécrétés comme les interleukines ou les interférons, soit par phénomènes de transduction induits par les molécules de surface précitées. Parmi ces dernières, on peut citer le groupement protéique CD3 lié au TCR (récepteur des cellules T) qui est nécessaire à l'activation des cellules T induite par un antigène, ou encore la protéine Fas qui est une molécule essentielle de la régulation immunitaire car elle induit la mort programmée des cellules.

15 Toutes les molécules ainsi décrites qui participent au fonctionnement et à la régulation du système immunitaire sont dénommées dans la présente demande molécules immunorégulatrices.

20 La réponse immunitaire standard à un agent microbien quelconque peut donc être schématiquement résumée comme suit: l'intervention de l'immunité non spécifique est quasi-immédiate puis, si besoin est, elle est suivie dans les 48 à 72 heures de l'apparition de la réponse immunitaire spécifique. Une fois le pathogène évacué, il y a des mécanismes de régulation (comme par exemple la sécrétion d'interféron alpha, l'expression de la protéine Fas et son activation pour préparer la mort programmée) qui permettent de contrôler la prolifération des cellules du système immunitaire induite par l'agent pathogène. Toutefois, il existe des exceptions à ce schéma directeur, en particulier lorsque l'agent microbien est un virus.

30 En effet, les virus surtout les virus à enveloppe et en particulier les rétrovirus, ont pu au cours de leur évolution prélever des séquences d'ADN ou d'ARN de leur hôte, et les incorporer à leur propre information génétique. Dans le contexte des protéines virales notamment des protéines d'enveloppes exposées en surface, les séquences peptidiques correspondantes peuvent induire une réaction immunitaire auto-immune, et ainsi perturber le fonctionnement normal de

4

l'organisme. Dans le cas du virus VIH-1 on a identifié de telles séquences. Il existe notamment des similitudes multiples entre la molécule gp120/160 et des protéines immuno-régulatrices. Contrairement à l'idée établie ce n'est pas le peptide au sein de la gp120/160 qui directement induit la pathogénèse chez le sujet infecté, mais c'est la réaction auto-immune dirigée contre ce peptide. En effet l'idée fausse d'une action directe du peptide au sein de la gp120/160 est établie à partir d'expériences in vitro où la concentration de gp120/160 utilisée est très supérieure (d'un facteur 1000) à la concentration existant réellement chez le sujet infecté. Le système in vitro montrant un rôle toxique de l'enveloppe gp120/160 n'est donc pas physiologique. On a démontré la participation des sites de similitude à la pathogénèse induite par le VIH-1, mais dans le cadre général d'une réaction auto-immune cellulaire et humorale, conduisant à une dérèglement immunitaire.

Dans la présente demande sont présentés les peptides nouveaux identifiés qui sont partagés par des molécules immuno-régulatrices et le virus VIH-1, jouant un rôle dans la maladie SIDA de par la réaction auto-immune déclenchée contre eux lors de l'infection. On précisera dans ce qui suit l'originalité et la genèse de la découverte des sites peptidiques et leurs propriétés, les stratégies prophylactiques et thérapeutiques à utiliser en conséquence dans le cadre du SIDA et d'autres applications directes, la mise en pratique de leur utilisation.

Lorsqu'on immunise des sujets séronégatifs contre les antigènes du VIH-1, il se produit une réponse immunitaire cellulaire spécifique avec des cellules tueuses spécifiques. Lorsqu'on immunise de la même façon des sujets séropositifs à un stade relativement avancé, quel que soit le protocole d'immunisation, il est difficile, voire impossible de faire apparaître une immunité spécifique. Il y a donc une barrière suppressive qui est installée chez les sujets infectés par le VIH-1. Pour comprendre la cause de cette barrière d'immuno-

5

suppression, on a recherché les sites viraux pouvant interférer avec le bon déroulement de la réaction immunitaire. Leur recherche a pu être réalisée notamment grâce à un logiciel particulier appelé Automat spécialement développé à cet effet (copyright JF Zagury).

Plusieurs sites partagés par le VIH-1 et des molécules immuno-régulatrices ont été identifiés, qui témoignent de l'existence d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés:

- Identité entre la molécule CD4 et la protéine gp120 du virus VIH-1: SLMDQ (résidus 110-114 dans la souche IAI, résidus 60-64 dans le CD4) (IS 1). Ce peptide SLMDQ a de plus les propriétés remarquables suivantes:

- Il est très conservé dans toutes les souches virales connues.

- Il existe une réaction immunitaire très forte contre des peptides contenant ce site, à la fois humorale et cellulaire (proliférative et tueuse) chez les sujets infectés par le VIH-1 (Exemples 4 et 13). Il existe donc une réaction auto-immune dirigée contre ce site chez les sujets infectés par le VIH-1.

- De plus SLMDQ correspond à un site critique de la molécule CD4 pour l'activation des cellules T car des oligopeptides contenant SLMDQ, en concentration suffisante, inhibent (probablement par compétition avec l'interaction CD4-CD4) l'activation des cellules T induite par l'antigène. Ce site peptidique a donc aussi pour application remarquable de pouvoir induire des états d'immuno-suppression ce qui est utile dans certains cas que nous détaillons plus loin.

- Similitudes entre la molécule gp120 de VIH-1 et la protéine Fas inductrice d'apoptose: VEINCTRPNN : IS 22 (résidus 297-306 du VIH-1 souche IAI) et VEINCTRTQN : IS 23 (résidus 99-108 de la protéine Fas), FYCNST : IS 24 (résidus 388-393 du virus VIH-1 souche IAI) et FFCNST : IS 25 (résidus 117-122 de la protéine Fas). Ces peptides ont de plus les

propriétés remarquables suivantes:

- Ils sont très conservés parmi les souches connues de virus VIH-1 surtout les souches d'origine caucasiennes. Le seul pentapeptide INCTR : IS 52 est partagé de manière unique entre Fas et VIH-1 et ce dans toute la banque MIPs.

- Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre des peptides (SVEINCTRPNNTRKSI et GGEFFYCNSIQQL) contenant ces sites chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). On a donc identifié d'autres éléments d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés par le VIH-1.

- Ces sites peptidiques correspondent aux 2 seuls sites glycosylés de la molécule Fas et sont aussi potentiellement glycosylés dans le VIH-1. Cela explique que la réponse humorale contre des peptides contenant ces séquences soit relativement faible chez les sujets séropositifs (contrairement à la réponse existant contre les peptides contenant SLMDQ) car dans la molécule native in vivo ces peptides sont associés à des sucres.

- Le virus VIH-2 possède de manière très conservée le site CNST et il partage avec la protéine Fas, et ce de manière unique dans la banque MIPs, l'identité CNSTV : IS 26 (résidus 445-449 dans gp110 de VIH-2, souche ROD).

- Similitude entre le récepteur (chaîne delta) au butyrate et la protéine pol du virus VIH-1: YVGSDELFI (résidus 355-362 de VIH-1 souche IAI) et YVGSNLEFI (résidus 27-34) du récepteur Fc des IGE. Ce peptide a de plus les propriétés remarquables suivantes:

- Ce site peptidique est bien conservé parmi les 30 différents isolats de VIH-1 connus.

- Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre un peptide (NPDIVYQYMDLIVGSDLEIGQHR) contenant ce site chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). On a donc identifié un autre élément d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés

par le VIH-1.

- Similitudes entre la molécule d'adhésion des leucocytes ELM-1 et la protéine pol du VIH-1: PLTEEA (résidus 461-466 du VIH-1 souche IAI, et 89-94 de ELM-1), et QGQWTYQ (résidus 501-507 du VIH-1 souche IAI) avec QGQWTQQ (résidus 350-356 de ELM-1). Ces peptides ont de plus les propriétés remarquables suivantes:

- Ils sont très conservés dans les isolats VIH-1 connus.

- Il existe une réponse immunitaire cellulaire dirigée contre des peptides (PLTEAELELAENRELIKEPVHGV et ELQKQGGQGM-TYQIYQEPFKLIKTC) contenant ces sites chez des sujets infectés par les VIH-1 (DF Nixon et al., AIDS, 1991, 5:1049-1059). Nous avons donc identifié d'autres éléments d'une réaction auto-immune chez les sujets infectés par le VIH-1.

- Similitude entre la protéine GAG (plus précisément le segment p6) du VIH-1 et la chaîne légère lambda des immunoglobulines: RSGVETTPSGK (résidus 476-487 de GAG souche IAI) et RAGVETTPPSKQ (résidus 179-190 de la chaîne légère d'immunoglobuline). Ce peptide a de plus la propriété remarquable suivante:

- Ce site peptidique est bien conservé parmi les différents isolats de VIH-1 et se trouve dans la partie constante des chaînes légères. La réaction immunitaire face à ce site chez les sujets infectés est en cours d'étude.

- Identité entre le récepteur Fc de forte affinité aux immunoglobulines de type E et la molécule gp160 du VIH-1: EALKYW (résidus 796-801 dans VIH-1 souche IAI, et résidus 150-155 dans le récepteur Fc). Ce peptide a de plus la propriété remarquable suivante:

- Ce site peptidique est bien conservé parmi les différents isolats de VIH-1 connus. La réaction immunitaire face à ce site chez les sujets infectés est en cours d'étude.

8

Les sites peptidiques du virus VIH-1 précités peuvent engendrer une réaction auto-immune qui contribue aux désordres immunitaires observés dans le SIDA. Les 2 molécules CD4 et Fas jouent certainement un rôle critique dans le développement de la maladie. On a en effet purifié par colonne d'affinité, à partir de 2 pools de sérums de malades, des anticorps dirigés contre des peptides contenant SLMDQ qui se montrent très immuno-suppressifs (Exemple 5) et causent l'anergie des cellules CD4. Cette anergie contribue à la dérégulation des cytokines observée lors de l'infection par le VIH-1 (notamment hyperproduction des interférons alpha et gamma). De plus l'existence de cellules tueuses anti-SLMDQ peut contribuer à la détection des cellules CD4. On a aussi observé l'existence du phénomène de mort par apoptose dans les PBls de sujets malades, soumis à une activation antigénique in vitro. L'identification des similitudes surprenantes entre Fas et VIH-1 jette une lumière toute nouvelle sur ce phénomène: en effet les PBls correspondent pour une bonne partie aux cellules mémoires du système immunitaire qui circulent dans l'organisme. Leur mort induite par l'activation par l'antigène montrent qu'elles ont précédemment reçu un signal de mort, et une réponse immunitaire dirigée contre ces segments communs à Fas et à VIH-1 peut expliquer ce phénomène. En particulier les anticorps dirigés contre les sites de glycosylation de Fas sus-cités pourraient agir comme le fait l'anticorps monoclonal APO-1 (Itoh et al., 1991, Cell, 66: 233-245) pour induire la mort programmée des cellules mémoire (dont la prolifération a cessé et qui ne sont donc pas allés au bout de leur différenciation apoptotique induite par lesdits anticorps) lors d'une activation ultérieure. Cliniquement, chez les malades atteints de SIDA il a été observé une relative absence de phénomènes allergiques: une réponse immunitaire dirigée contre le site identité avec le récepteur Fc des IgE peut expliquer cela comme un phénomène de désensibilisation progressive. La réponse immunitaire dirigée contre l'adhésine ELAM-1 peut

BNSOCDP 4WO 9403487A.1.2

9

expliquer des désordres pour le déroulement de la réponse face à des agents pathogènes. Le butyrate est un régulateur important de l'immunité et une réponse dirigée contre le récepteur au butyrate bloquant ou hyperactivant celui-ci peut aussi contribuer aux dérèglements du système immunitaire. Enfin la présence de la similitude importante entre la chaîne légère lambda et le VIH-1 peut contribuer par l'existence d'anticorps dirigés contre ce site à la prolifération polyclonale des lymphocytes B observée dans le SIDA.

Il serait souhaitable de disposer d'armes efficaces pour lutter contre le développement du SIDA. C'est pourquoi la présente invention a pour objet un nouveau peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par

SLMDQ (IS N°1)  
SLMDQSLK (IS N°51)  
DIISLMDQSLK (IS N°3)  
HEDISLMDQSLKPCVK (IS N°46)  
VEINCTRR<sup>2</sup>N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)  
FR<sup>2</sup>CNST (R<sup>1</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)  
YVGSRL<sup>1</sup>ET (R<sup>2</sup>=D ou N) (IS N°27 et 28)  
PLTEEA (IS N°29)  
QGQWTR<sup>4</sup>Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)  
RR<sup>5</sup>GVETTPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°40 et 49)  
EALK<sup>6</sup>W (IS N°34)  
CNSTV (IS N°26)  
EETAGVYSTN (IS N°50)  
VVSTNN<sup>7</sup>RNG (IS N°14)  
VEINCTR (IS N°37)  
INCTR (IS N°52)

et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchaînement peptidique de préférence 1 à 4 et tout particulièrement 1 à

BNSOCDP 4WO 9403487A.1.2

10

2 ou 1 à 3 acides aminés, ainsi que ses multimères en séquence linéaire comportant de 2 à 8 et de préférence 2 à 6 unités monomères. Le nombre total d'acides aminés de la séquence est de préférence supérieur ou égal à 10.

5 Le monomère d'origine provient de préférence du virus ou de la molécule immuno modulatrice.

Une fois le concept d'auto-immunité face à des sites précisément définis du virus précisé, il est possible de lutter contre cet aspect de la maladie en rendant l'organisme tolérant contre les sites en question. Cela peut se faire classiquement en injectant au sujet les peptides ci-dessus multimérisés par liaison par exemple au MPEG, ou par exemple par traitement au glutaraldéhyde, ou encore par simple multimérisation de séquence. Le produit peut être injecté dans un solvant adéquat ou même comme cela a été décrit par exemple dans de l'eau distillée en injection intra-musculaire ou par voie intra-nasale par petites instillations répétées. Ainsi des souris ont été rendues tolérantes contre le peptide DIISIMDQSIKPCVK en leur instillant pendant 5 jours consécutifs une dose de 1 microgramme de peptide dans 20 microlitres d'eau distillée. De manière générale les doses à utiliser sont à adapter au conditions de l'injection (sujet, mode, peptide), mais il est à remarquer que les doses utilisées sont en général inférieures aux doses nécessaires aux immunisations conventionnelles. La tolérance ne dure pas de manière indéfinie et il est préférable de tester l'état immunitaire du sujet traité face à l'épitope considéré: en général il semble convenable de réitérer l'induction de la tolérance toutes les 6-8 semaines au moins dans les premiers 8 mois du traitement. Le produit injecté peut-être un peptide (viral ou de la protéine d'origine notamment), un fragment de protéine (par exemple un fragment de la protéine virale contenant le site et préparée par génie génétique) ou une protéine entière (par exemple la protéine gag produite dans des bactéries recombinantes) contenant les sites de similitude pré-cités, caractérisés en ce qu'ils

11

comportent de 4 à 1000, de préférence de 4 à 200 acides aminés, plus préférentiellement de 4 à 20 acides aminés, notamment 5 à 12 acides aminés ainsi que les dérivés les renfermant. La tolérance peut aussi être induite par injection de liposomes portant des molécules de CMH2 présentant un peptide contenant le site voulu. Pour améliorer l'effet de tolérance les polypeptides utilisés peuvent contenir les séquences voisines dans le virus ou dans la molécule d'origine (CD4, Fas, Récepteur Fc des IgE etc...) du site en question précité. Par exemple les séquences DIISIMDQDIISIMDQ ou DIISIMDQSIKDIISIMDQSIK constituent un dimère de la région virale contenant SIMDQ et peut être utilisée pour provoquer la tolérance; il en est de même pour la séquence RADSRRSIMDQRADSRRSIMDQ en provenance de la séquence du CD4. De manière générale toute tolérance induite contre les sites précités aide à éviter ou ralentir l'évolution de la maladie SIDA. L'usage de la gp120 toute entière est acceptable, à condition que cela soit sous la forme d'induction d'une tolérance. Cependant il n'est pas recommandé de l'utiliser car parmi les anticorps anti-gp120, dont beaucoup semblent efficaces pour neutraliser les particules virales, tous ne sont pas toxiques sur le plan de l'auto-immunité et il est dommage d'en priver l'organisme. De même l'usage de la molécule CD4 entière pour induire la tolérance est intéressant. Cette molécule CD4 a été préparée sous forme soluble qui permet de l'utiliser facilement.

La tolérance peut également s'obtenir par injection de liposomes portant des molécules CMH de classe II présentant le peptide contre lequel l'organisme doit être rendu tolérant. Pour de meilleurs résultats, il peut être intéressant de multimériser le peptide (par exemple utiliser SIMDQ sous forme de di ou tétramère SIMDQSIMDQ ou SIMDQSIMDQSIMDQSIMDQ. Ce dernier peptide est intéressant car il est suppressif de l'activation des cellules T et il est aussi reconnu par les anticorps des malades infectés par le VIH-1. La présente demande a de manière générale pour

12

objet tout moyen capable d'empêcher l'obtention d'une réponse immunitaire contre les segments des protéines rétrovirales de VIH-1 et VIH-2, qui présentent une similitude avec des molécules immuno-régulatrices. En particulier les protéines précitées CD4, Fas, récepteur aux IgF, récepteur au butyrate, chaîne légère d'immunoglobuline lambda, ELA-M-1.

La tolérance peut également s'obtenir:

- chez le nouveau né en injectant de manière à produire la tolérance de celui-ci à des protéines virales (VIH-1 ou VIH-2) entières ou des fragments de ces protéines, ou plus spécifiquement des peptides contre lesquels on veut induire la tolérance comme ceux précédemment décrits.

On en déduit de ce qui précède qu'il faut éviter la présence des sites précédemment mentionnés dans toute composition vaccinale. Cela peut être fait en utilisant des produits vaccinaux (peptides, protéines, ADNs) où les sites en question (en particulier Fas ou CD4) ont été supprimés ou modifiés. Ainsi on a montré que le site SLVDQ n'est pas source d'auto-immunité chez les sujets infectés. Il semble que le tryptophane joue un rôle clé dans ce processus auto-immun (comme il joue un rôle déterminant dans l'activation des cellules T), et donc toute modification du tryptophane (W) en particulier doit être intéressante. Aussi une réponse dirigée contre les zones voisines de ces sites devrait permettre de les neutraliser: par exemple immuniser contre le peptide HENIT (GPI20 105-109) ou SLKPCVK (GPI20 115-121) ou HEDISL (GPI20 105-11) qui chevauche partiellement SLVDQ.

Beaucoup d'essais de vaccination ont actuellement lieu avec l'enveloppe GPI60 entière du virus. Il semble y avoir un réel danger d'auto-immunité induit par de telles immunisations. La présente demande a donc aussi pour objet des molécules d'enveloppe GPI60 mutées, additionnées ou déletées d'un ou plusieurs (par exemple 1, 2 ou 3) acides aminés au niveau des sites CD4 et Fas:

35 -par exemple SLVDQ peut être transformé en SLVDQ, VEINCTR peut être transformé en VEIDCSR, et FYCNST en FYCDSS. Toute

13

modification d'acide(s) aminé(s) évitant une réponse auto-immune est suffisante. Dans le cas de Fas, il est possible que les sites NXT soient une clé majeure dans le phénomène auto-immun car la glycosylation est connue pour son rôle en immunologie et il peut donc être intéressant de les modifier tout particulièrement.

Une composition pharmaceutique destinée à vacciner contre une infection à rétrovirus, notamment VIH, ci-dessus peut en outre contenir plusieurs principes actifs tel un peptide muté HEDISLVDQSIK, et un fragment d'enveloppe préparé par génie génétique et ne comprenant ni la zone de similitude avec Fas ni la zone d'identité avec CD4. Une composition pharmaceutique vaccinale peut être fabriquée de manière conventionnelle. On peut associer un peptide selon l'invention en quantité suffisante pour être efficace d'un point de vue thérapeutique, avec un solvant ou un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique. Par exemple l'immunogénicité d'un peptide ci-dessus peut être conférée par la préparation de protéosomes ou par l'utilisation d'un composé acceptable d'un point de vue pharmaceutique qui a de préférence les propriétés d'un adjuvant (composé lipidique, extraits bactériens...).

Les peptides et protéines natifs ou modifiés définis ci-dessus, ainsi que les compositions pharmaceutiques les renfermant peuvent donc être utilisés à titre de traitement pour créer une immunisation pour lutter contre l'infection par le VIH-1 ou la prévenir. Il peuvent être administrés à titre curatif ou préventif.

Les peptides immunogènes ont une très faible toxicité ; administrés à la dose de 50 µg à la souris, aucune toxicité n'a été observée.

Une composition ci-dessus peut être administrée par n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie sous-cutanée, par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie intradermique, par exemple sous forme de suspension injecta-

14

ble, ou encore par voie orale selon l'application que l'on veut mettre en oeuvre. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après une certain intervalle. Le dosage varie en fonction de divers paramètres, par exemple, de l'individu traité ou du mode d'administration. A titre d'exemple, on indique toutefois que, chez des mammifères tel le rat ou la souris ou le singe, on obtient des résultats satisfaisants avec une dose de chacun des peptides des IS N° 1, 2, 3, 4, 5, d'environ 10 à 100µg/Kg de poids corporel, de manière avantageuse de 30 à 70 µg/kg de poids corporel, de préférence de 45 à 55 µg/Kg de poids corporel, tant présentés sous forme de protéosomes que couplés à des toxoïdes ou d'autres protéines porteuses (KLH ou BSA...) ou qu'émulsionnés.

15 Les doses les plus faibles sont avantageusement administrées en présence d'adjuvants et/ou à intervalles répétés tandis que les doses les plus fortes peuvent être administrées une seule fois et/ou en absence d'adjuvant.

20 Ce qui a été dit à propos des sites auto-immuns du VIH-1 s'applique directement au VIH-2. En résumé, pour réaliser une immunisation anti-VIH-2, il est recommandé d'utiliser des protéines de VIH-2 déletées ou modifiées au niveau des sites d'identité avec les protéines CD4 et Fas notamment du site d'identité entre Fas et gp110, CNSTV, précité.

25 Comme les anticorps dirigés contre les sites précités peuvent jouer un rôle toxique, on peut aussi immuniser contre ces anticorps, c'est à dire induire une réaction anti-idiotypique ou encore utiliser des anticorps anti-idiotypiques de manière passive. Ces anticorps seront donc dirigés contre des anticorps eux-mêmes dirigés contre des épitopes comprenant les sites communs avec les protéines immuno-régulatrices.

35 Rappelons que la demanderesse a découvert en effet que des rétrovirus, particulièrement VIH-1 et VIH-2, passent par une phase d'auto-immunité chez l'homme mettant en jeu des

15

molécules essentielles pour la défense immunitaire de ce malade, notamment ses propres molécules CD4 ou Fas. Il semble que la réponse immunitaire cellulaire dirigée contre ces peptides autologues (CD4, Fas, chaîne légère d'Ig, récepteur aux IgE, récepteur au butyrate, ELAM-1) peut jouer un rôle dans la dérèglement immunitaire observée dans le SIDA. Le malade supprime lui-même, par auto-immunité (auto anticorps, cellules tueuses), son potentiel de défense immunitaire. De ce fait, des anticorps anti-idiotypiques, dirigés contre les auto-anticorps sont donc capables d'annihiler cette suppression des défenses.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet de nouveaux anticorps anti-idiotypiques, caractérisés en ce qu'ils sont dirigés contre les anticorps qui reconnaissent eux-mêmes les épitopes notamment SIMDO, VEINCTRPNN, VEINCTRTON, FYCNST, FFCNST, YVGSLEI, YVSNLEI, PLTEEA, QGQWTYQ, QGQWTQQ, RSGVETTPSQK, RAGVETTPSQ, EALKY ou leur dérivés glycosylés dans la molécule native. La préparation de tels peptides et leurs dérivés est décrite ci-après. Parmi les anticorps anti-idiotypiques ci-dessus décrits on retient notamment ceux dirigés contre les anticorps qui sont eux-mêmes dirigés contre les peptides et leurs dérivés ci-dessus comportant 4 à 20, et particulièrement 5 à 12 acides aminés.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation des anticorps anti-idiotypiques tels que définis ci-dessus caractérisé en ce que l'on isole lesdits anticorps, de préférence chez l'homme immunisé par des anticorps reconnaissant l'un des épitopes décrit ci-dessus, par exemple en transformant les cellules B d'un malade par l'EBV (virus Epstein Barr) et en sélectionnant les clones cellulaires produisant des anticorps dirigés contre les anticorps anti-peptide utilisés comme antigènes dans l'immunisation, pour obtenir les anticorps anti-idiotypiques désirés, que l'on isole ainsi.

35 Les anticorps anti-idiotypiques objet de la présente invention possèdent de très intéressantes propriétés



16

pharmacologiques. Ils sont doués notamment de remarquables propriétés de blocage des auto-anticorps contre la molécule immunorégulatrice considérée. Ces anticorps peuvent être injectés, notamment isolés ou couplés à une matrice, ou encore par exemple mis dans un système de relargage tel que des billes qui se dissolvent progressivement.

Ces propriétés justifient l'utilisation des anticorps anti-idiotypiques dirigés contre les anticorps eux-mêmes dirigés contre les peptides et leurs dérivés ci-dessus décrits à titre de médicament.

C'est pourquoi la présente demande a aussi pour objet les médicaments caractérisés en ce qu'ils sont constitués des anticorps anti-idiotypiques tels que définis ci-dessus, c'est à dire lesdits anticorps anti-idiotypiques pour leur utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.

A titre de médicaments les anticorps anti-idiotypiques selon l'invention peuvent être incorporés dans des compositions pharmaceutiques classiques des anticorps, notamment celles destinées à la voie parentérale.

C'est pourquoi l'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques qui renferment au moins un anticorps anti-idiotypique précité, à titre de principe actif, c'est à dire un des médicaments ci-dessus définis.

Ces compositions pharmaceutiques peuvent être, par exemple, solides ou liquides et se présenter sous les formes pharmaceutiques couramment utilisées en médecine humaine, pour la voie parentérale comme par exemple les poudres lyophilisées, les préparations injectables: elles sont préparées selon les méthodes usuelles. Le ou les principes actifs peuvent y être incorporés à des excipients habituellement employés dans ces compositions pharmaceutiques.

Les auto-anticorps peuvent également être bloqués par des anticorps anti-idiotypiques générés de façon active par l'organisme. On peut immuniser l'individu à l'aide des anticorps ou fragment Fab ou (Fab)', reconnaissant les

17

épitopes décrits ci-dessus, et ce dernier réagit ainsi en synthétisant des anticorps anti-idiotypiques. Ces anticorps reconnaissant les épitopes précités et utilisés comme agents immunogènes, peuvent être monoclonaux ou polyclonaux; ils peuvent être homologues (humains) ou hétérologues; ils peuvent être humanisés si nécessaire, comme tout cela est décrit ci-après. L'immunisation peut-être réalisée de différents façons notamment celles décrites ci-dessus et ci-après. Les auto-anticorps ou leurs parties variables, qui peuvent être préparés notamment selon les techniques classiques du génie génétique ou isolés d'individus malades ou immunisés, par exemple par chromatographie d'affinité, peuvent être utilisés à différentes doses d'immunisation, de préférence allant de 10 µg à 10 mg chez l'homme adulte.

Il est clair que si des anticorps jouent un rôle toxique à cause des épitopes auto-immuns qu'ils reconnaissent on peut envisager de leur donner des leurres pour que leurs sites de liaison soient bloqués et qu'ils soient métabolisés. Un leurre consiste en la séquence épitopique elle-même ou un dérivé de cette séquence permettant l'accrochage de l'anticorps. On a donné les séquences des épitopes ci-dessus et l'utilisation de tout dérivé peptidique les contenant (voir ci-après) comme leurre entre dans le cadre de la présente invention. La concentration peptidique utilisée ne doit pas être toxique: In vitro on observe que des concentrations de peptides contenant SIMDQ de l'ordre de 100 microgrammes par millilitre inhibent l'activité des cellules T car ce site correspond à un site majeur pour l'interaction CD4-CMH2 comme on l'a démontré (cf exemple 2 et ci-dessous). Dans le cas de cet épitope il faut donc se placer dans un ordre de concentration effective inférieur à la dose toxique. Les mêmes observations restent valables pour les autres épitopes si ils jouent un rôle fonctionnel.

Il semble que les segments glycosylés de la protéine Fas participent comme épitopes cibles à une réaction auto-immune en particulier humorale chez les sujets infectés.

18

En conséquence on peut utiliser certains sucres pour rentrer en compétition avec l'effet de ces anticorps et bloquer le processus auto-immun anti-Fas. Ces sucres peuvent être par exemple des molécules de glucosamine acétylées (GluNAc) ou des noyaux galactoses simples ou des galactosides ou d'autres sucres appropriés.

Les expériences faites sur l'activation des cellules CD4 en présence de peptides contenant SLWDQ montrent le rôle fonctionnel de ce site. Une inhibition dose-dépendante de l'activation des cellules CD4 s'observe à une concentration de l'ordre de 100 microgrammes par millilitre (voir exemple 2). Cette inhibition s'explique par la compétition exercée par le peptide dans l'interaction CD4-CMH2. Dans la structure tri-dimensionnelle connue de la molécule CD4, le site SLWDQ est caché et cela est confirmé par la difficulté à obtenir des anticorps monoclonaux dirigés contre cet épitope, chez la souris. Le fait qu'il y ait compétition avec des peptides contenant la séquence SLWDQ s'explique alors par un changement conformationnel de la molécule CD4 lors de l'activation induite par l'antigène. Ce changement dégraderait la zone SLWDQ, lui permettant par exemple d'interagir avec le CMH2. De la même façon il est logique de penser que les anticorps reconnaissant l'épitope SLWDQ, présents en grand nombre chez les malades pourrnt bloquer cette interaction comme le fait le peptide: cela contribue à expliquer l'anergie des cellules T observée lors de la maladie SIDA. De la même façon des anticorps dirigés contre le site commun à Fas et gp120 pourrnt induire une mort programmée des cellules CD4. De ce fait, aussi bien les peptides suppressifs contenant SLWDQ que les anticorps dirigés contre cet épitope ou les épitopes Fas sus-cités peuvent être utilisés pour leurs propriétés immuno-suppressives illustrées ci-après dans la partie expérimentale (dans le cas du CD4) qui justifient leur emploi comme médicaments et leur incorporation dans des compositions pharmaceutiques.

En effet, en ce qui concerne les propriétés

19

immunosuppressives des peptides issus d'une molécule CD4 ci-dessus, ceux-ci, administrés à un mammifère malade entrent en compétition avec les lymphocytes porteurs de CD4, et empêchent la coopération CD4-CMH. En ce qui concerne les anticorps dirigés contre ces peptides, ceux-ci se fixent sur le segment concerné du CD4 et peuvent bloquer aussi son interaction avec le CMH (pouvant conduire à un état d'anergie), ou sinon par action directe sur le CD4 induire des phénomènes de transduction inhibiteurs (anergie) ou activateurs. De même pour les anticorps anti-Fas dirigés contre les épitopes sus-cités qui pourrnt, utilisés de manière transitoire, bloquer l'activation des cellules T en stimulant leur mort prématurée. Les peptides et anticorps ci-dessus trouvent de ce fait de remarquables applications pour induire des immunosuppressions. Cela s'applique donc notamment aux cas suivants :

- l'immunosuppression dans le traitement des maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux systémique ou la polyarthrite rhumatoïde (pour inhiber l'activation T auto-immune), dans le cas des transplantations, notamment d'organes (on sait d'ailleurs que l'anticorps OKT4 est utilisé avec un certain succès dans ce but), dans le cas des leucémies et particulièrement des leucémies T pour bloquer la prolifération cellulaire.

Il est à souligner que le peptide de la gp120 HEDISLWDQSLKPCFK (IS 46) qui contient une proline conservée au même niveau dans la molécule CD4 (SLWDQGNFE) est l'un des meilleurs inhibiteurs de l'activation des cellules T. Il est donc important de mentionner des peptides contenant cette proline comme le peptide IS 46. On peut associer dans une même molécule des peptides ci-dessus avec d'autres peptides qui renforcent leur action : par exemple, le site CD4-binding de liaison du VIH-1 au récepteur CD4 permettra un meilleur ancrage à la cellule T et ainsi l'action des peptides immunosuppressifs tel HEDISLWDQSLKPCVK sera renforcée (IS 47). Cette association dans une même molécule peut se faire de multiples façons, par exemple en associant les deux

20

séquences par une autre séquence telle que (G)n, ou en réalisant des structures peptidiques "en candélabres" notamment par des résidus lysine (K)

Les peptides ci-dessus peuvent être utilisés tels quels ou sous forme de dérivés, associés par exemple à des polysaccharides, des peptides, des noyaux. De tels dérivés entrent dans le cadre de la définition des peptides selon l'invention. C'est pourquoi parmi les peptides ci-dessus, on retient notamment ceux comprenant une séquence issue du site de liaison de gp120 avec la molécule CD4, provenant de VIH-1 ou de VIH-2 (résidus 423-450 dans Env VIH-1 IAI) (cf IS8).

Toutes les indications données ci-dessus par référence aux molécules immunorégulatrices, notamment le CD4, peptides, anticorps s'appliquent également notamment aux peptides du CMH2 situés dans une zone essentielle pour l'activation des lymphocytes T dans la réponse immunitaire. En effet, en se basant notamment sur les données cristallo-graphiques obtenues pour le CMH1, on a identifié une région du CMH2, chaîne  $\beta$ , qui est exposée spatialement et qui est susceptible d'intervenir dans la liaison avec le CD4. La séquence de cette région est : FLNGQEEAGVSTN (IS 16).

On a montré expérimentalement que les peptides issus de ce site sont immunosuppressifs (voir exemple 7) comme le sont les peptides CD4 déjà décrits. De la même façon que pour le CD4, on retiendra donc plus particulièrement une séquence présentant une similitude avec la séquence FLNGQEEAGVSTN (IS16) (CMH de classe II : résidus 169-183), la séquence VVSTQILING (IS13) (résidus 254-263 de gp120) ou la séquence VVSTNLRNG (IS14) (résidus 179-188 du CMH de classe II).

Comme pour le CD4 on pourra aussi obtenir les éléments suivants :

- peptides utilisés tels que ou couplés comme agents immuno-suppresseurs ;
- 35 - anticorps reconnaissant l'épitope CMH2 ci-dessus et induisant ainsi un effet d'immunosuppression.

21

Les antigènes polypeptidiques ci-dessus décrits (peptides, fragments de protéines, protéines) et leurs dérivés, peuvent être préparés selon des méthodes connues en elles-mêmes, par exemple par synthèse chimique classique pour les peptides (on peut pour cela par exemple opérer une synthèse en phase solide à partir d'un support solide aminé et des acides aminés désirés), par purification biochimique appropriée ou génie génétique (systèmes eucaryotes ou procaryotes au choix selon les contraintes biologiques requises telle la glycosylation) pour les fragments de protéines du VIH-1 ou des molécules immuno-régulatrices, ou pour ces protéines elles-mêmes. Par "dérivés" comprenant lesdits peptides" l'on entend par exemple les structures protéiques, glycoprotéiques ou peptidiques renfermant ledit peptide, et destinées à optimiser l'utilisation désirée du peptide: par exemple il semble que le peptide multimère SIMDQSIMDQSIMDQSIMDQ donne de meilleures suppressions que le peptide SIMDQ seul.

Par exemple, on peut préparer une composition pharmaceutique en diluant un polypeptide ci-dessus mentionné dans une suspension eau/huile. D'autre part, des protocoles appropriés sont tels que décrits et obtenus dans Lowell et al, J.Exp.Med., (1988) 167 : 658. Lorsqu'un peptide ci-dessus est associé à des protéosomes, il est de préférence préparé sous forme de conjugué, c'est à dire qu'il est lié par liaison covalente à un groupement hydrophobe tel qu'un radical acide gras, par exemple un radical lauryl ou lauryl-Cys, ou bien il comprend outre la séquence caractérisante, une séquence-pied composée d'acides aminés hydrophobes par exemple le pied Phe-Leu-Leu-Ala-Val-Phe-Cys ; la séquence-pied est de préférence liée par liaison peptidique à l'extrémité NH<sub>2</sub>-terminale de la séquence caractérisante.

Les anticorps, notamment monoclonaux tant homologues (humains) qu'hétérologues, dirigés contre les peptides ci-dessus décrits, ainsi qu'un procédé de préparation desdits anticorps selon lequel l'on prépare, selon des opérations

22

connues en elles mêmes les anticorps désirés, sont également intéressants.

Ces anticorps peuvent être préparés chez l'homme ou chez l'animal, tel que le singe, la souris, le cheval, le lapin etc....

Les anticorps dirigés contre les peptides et leurs dérivés utilisés pour les immunisations décrites aux paragraphes ci-dessus peuvent être préparés par exemple comme suit:

- 10 - Pour produire des anticorps monoclonaux, on prélève les cellules B d'un individu infecté ou immunisé ou d'un animal immunisé contre le peptide désiré ou contre le composé immunogène, tel qu'une glycoprotéine renfermant ledit peptide, cellules B que l'on transforme avec l'EBV. On clone ces cellules individuellement dans des puits en les laissant se multiplier dans un milieu de culture approprié. On teste aussi parmi ces clones ceux qui produisent des anticorps dirigés contre la spécificité du peptide, par exemple par ELISA. De tels anticorps peuvent être également sélectionnés et produits par génie génétique, à partir de librairies génomiques ou d'ADNC.
- 20 - Pour obtenir des anticorps polyclonaux, ceux-ci peuvent être isolés à partir du sérum ou plasma d'animaux immunisés ou infectés. Le peptide considéré est fixé sur une colonne (chromatographie d'affinité) par exemple grâce à ses sites amines ou bien carboxyles. Le sérum est filtré à travers la colonne et les anticorps sériques ainsi adsorbés sont élués par exemple par modification du pH comme utilisation d'un pH acide.
- 30 On peut aussi humaniser des anticorps obtenus pour pouvoir les injecter à l'homme sans réaction hétérologue. Par exemple le CDNA d'un anticorps monoclonal de souris dirigé contre le peptide DIISLDQSLKPCVK peut être cloné, et par génie génétique on peut en récupérer la partie variable contenant le paratope (site de liaison avec l'épitope) et l'associer avec le reste d'une immunoglobuline humaine. Le

23

tout peut alors être produit dans des systèmes procaryotes ou eucaryotes adéquats pour donner un anticorps humanisé. Cet anticorps pourra être alors utilisé pour une vaccination anti-idiotypique.

- 5 Les immunisations se font classiquement avec des quantités d'antigènes (que ce soient des peptides, polypeptides, fragments de protéines, protéines incluant les anticorps si on veut obtenir une immunisation anti-idiotypique par exemple) allant de 10 µg à 20 mg mais il est possible de donner de plus fortes ou de plus faibles doses.
- 10 On sait qu'en thérapie humaine, les antigènes peuvent être utilisés directement comme immunogène dans des émulsions eau dans huile ou enchâssés au sein d'adjuvants aqueux de phosphate de calcium ou encore adsorbés sur un gel de phosphate d'alumine. Les antigènes peuvent aussi être présentés conjugués à des protéines porteuses, comme le toxoïde tétanique ou encore le KMH. Enfin, les antigènes peuvent également être présentés au sein de bactéries dans des constructions de recombinaison génétique, après l'insertion de séquences nucléotidiques appropriées dans des plasmides.
- 20 Une composition pharmaceutique renfermant de tels antigènes est avantageusement destinée à la prévention ou au traitement d'une infection à VIH-1.
- 25 Enfin, une composition pharmaceutique vaccinale selon l'invention peut être fabriquée de manière conventionnelle. En particulier, on associe un antigène selon l'invention (peptide, polypeptide, fragment de protéine, protéine tels que décrits dans les paragraphes précédents) en quantité suffisante pour être efficace d'un point de vue thérapeutique, avec un solvant ou un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique. Une composition selon l'invention peut être administrée par n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie sous-cutanée, par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie intradermique, par exemple sous forme de

24

suspension injectable, ou encore par voie orale selon l'application que l'on veut mettre en oeuvre. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après un certain intervalle.

5 Le dosage varie en fonction de divers paramètres, par exemple, de l'individu traité ou du mode d'administration. A titre d'exemple, on indique toutefois que, chez des mammifères immunisés comme des ours ou des singes, on obtient des résultats satisfaisants avec une dose de chacun

10 des peptides des IS N°

1, 2, 3, 4, 5, d'environ 10 à 100 µg/kg de poids corporel, de manière avantageuse de 30 à 70 µg/kg de poids corporel, de préférence de 45 à 55 µg/kg de poids corporel, tant présentés sous forme de protéosomes que couplés à des toxoïdes ou

15 d'autres protéines porteuses (BSA, KLH...) ou qu'émulsionnés. Les doses les plus faibles sont avantageusement administrées en présence d'adjuvants et/ou à intervalles répétés tandis que les doses les plus fortes peuvent être administrées une seule fois et/ou en absence d'adjuvant.

20 Des immunisations peuvent aussi être réalisées directement par injection d'ADN correspondant aux protéines ou fragments de protéines qui nous intéressent (cf paragraphes précédents) et qui est capté par les cellules et produit localement.

25 De manière générale toute méthodologie aboutissant à la création d'une réponse immunitaire humorale (anticorps) ou cellulaire (cellules effectrices) sera valable.

Les produits ci-dessus sont dotés de remarquables propriétés qui justifient leur utilisation comme médicament.

30 L'usage de ces peptides ou dérivés dans les tests, in vitro, notamment de type ELISA pour évaluer l'évolution de la maladie, sachant que de fortes réponses en ELISA face à ces peptides peuvent être corrélées à une forte défaillance de l'immunité. De tels peptides sont notamment DIISLWDQSLK (IS3) ou TASSQK (IS12) qui présentent des réponses extrêmement

25

diagnostic en découlent.

La présente demande a en résumé comme objets:

5 - un peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par

SLWDQ (IS N°1)

SLWDQSLK (IS N°51)

DIISLWDQSLK (IS N°3)

10 HEDISLWDQSLKPCVK (IS N°46)

VEINCTRR'R'N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)

PR'CNST (R<sup>2</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)

YVGSR'LEI (R<sup>3</sup>=D ou N) (IS N°27 et 28)

PLTEEA (IS N°29)

15 QGQWTR'Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)

RR'GVETTPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°48 et 49)

EALKYW (IS N°34)

CNSTV (IS N°26)

EEFAGVSTN (IS N°50)

20 VVSTNNIRNG (IS N°14)

VEINCTR (IS N°37)

INCTR (IS N°52)

et en ce qu'il comporte si désiré du côté N terminal et C terminal de 1 à 5 autres acides aminés en enchaînement peptidique, ainsi que ses multiples en séquence linéaire comportant de 2 à 6 unités monomères.

25 - un peptide tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que le monomère d'origine est viral ou provient d'une molécule immunorégulatrice.

30 - un peptide, fragment de protéine ou protéine renfermant un peptide tel que défini ci-dessus caractérisé en ce que ledit peptide est modifié par délétion, addition ou modification d'un ou plusieurs acides aminés pour perdre son caractère d'épitope chez les sujets infectés par VIH-1 ou VIH-2.

35 - un peptide comportant de 5 à 20 acides aminés, caractérisé en ce qu'il est d'origine virale, en ce qu'il est adjacent à

26

- un des peptides définis ci-dessus dans la séquence virale, et en ce que, du côté C terminal ou N terminal, il chevauche 1 ou 2 acides aminés d'un peptide tel que défini ci-dessus.
- un anticorps caractérisé en ce qu'il reconnaît 1'un au moins des peptides tels que définis ci-dessus.
- 5 -les anticorps anti-idiotypiques dirigés contre 1'un au moins des anticorps définis ci-dessus.
- Les médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des peptides définis ci-dessus.
- 10 - Les médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des anticorps définis ci-dessus.
- une méthode de lutte contre le VIH-1 ou 2 par induction d'une tolérance du sujet traité vis-à-vis des peptides définis ci-dessus, caractérisé en ce que 1'on administre à un malade
- soit un peptide défini ci-dessus, -
- soit un fragment de protéine contenant ce peptide
- 20 - soit une protéine entière contenant ce peptide.
- une méthode d'induction de la suppression immunitaire chez un sujet dans laquelle 1'on administre un peptide non-modifié ci-dessus comprenant la séquence SIMDQ, la séquence EF-TRGVYSTN ou la séquence VVSTNLRNG;
- 25 - une méthode de vaccination dans laquelle 1'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, fragment de protéine ou protéine modifié tel que défini ci-dessus ;
- une méthode de vaccination dans laquelle 1'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide adjacent tel que défini ci-dessus ;
- 30 - une méthode d'induction d'un état d'immuno suppression dans lequel on administre par voie parentérale 1'un au moins des anticorps définis ci-dessus ;
- une méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle 1'on administre sous forme immunogénique 1'un au moins des anticorps définis ci-dessus ;
- 35

27

- et enfin une méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle 1'on administre par voie parentérale 1'un au moins des anticorps anti-idiotypiques définis ci-dessus.

Les exemples qui suivent illustrent la présente demande sans toutefois la limiter.

#### EXEMPLE 1

On prépare classiquement du peptide SIMDQ (IS1) et du peptide HEDISIMDQSLK (IS9) inclus dans des protéosomes. On injecte aux souris par voie intramusculaire 50µg du produit couplé aux jours J0, J30, J60. On prélève le sérum à J70 pour faire des ELISA. Les résultats obtenus sont les suivants en réponse ELISA par rapport à des sérums témoins de souris non immunisées et à des peptides témoins.

Les souris de la série 1 ont été immunisées par SIMDQ (IS1), les souris de la série 2 ont été immunisées par HEDISIMDQSLK (IS9), les souris de la série 3 sont des témoins non immunisés.

Peptide	Souris 1	Souris 2	Souris 3
IS1	+++	+++	-
IS10	-	-	-
IS11	-	-	-
IS9	+++	+++	-

Les résultats montrent que les peptides IS1 et IS9 sont immunogènes et on a pu obtenir des anticorps contre ces peptides par immunisation chez la souris. L'exemple 4 ci-après montre d'ailleurs l'existence d'anticorps dirigés contre ces peptides chez les malades infectés.

EXEMPLE 2 : Inhibition par des peptides suppresseurs de l'activation des cellules T.

- 30 - Des cellules mononucléées du sang frais de sujets non infectés (PBMC) ont été isolées par Ficoll-

Hypaque. Les monocytes macrophages ont été ensuite purifiés par adhérence sur plastique. Les cellules adhérentes ont été incubées 6 heures à 37° avec 1µg/ml de SEB (Entérotoxine B de staphylococque ou de la tuberculine (PPD) Mérieux à 0,02%.

- 5 Après lavage, ces cellules ont été utilisée comme cellules présentatrices. Des cellules T répondeuses ont été obtenues par sélection immunomagnétique négative : les cellules PBMC ont été incubées avec l'anticorps monoclonal anti-HLA-DR et lavées puis mélangées avec des billes recouvertes par des anticorps anti-(IgG de souris).

Les cellules HLA DR (+) (cellules déjà activées) ont été enlevées avec un aimant pendant 5 mn. Les cellules HLA DR (-) (cellules au repos) ont ainsi pu être récupérées.

- 15 - Des cellules autologues présentatrices sont cultivées en mélange avec des cellules répondeuses HLA DR (-) avec différents peptides pendant 5 jours à 37°. Les réponses en prolifération sont mesurées par l'incorporation de thymidine tritiée. Les résultats consignés dans le tableau suivant montrent l'effet inhibiteur des peptides contenant la séquence SIMDQ (IS1). Ces expériences montrent aussi le rôle inhibiteur des peptides issus du site de liaison de la gp120 avec le CD4. Le site de liaison du CD4 avec la gp120 (résidus 40-59 du CD4) pourra lui aussi être inhibiteur.

	PEPTIDES (souche IAI)	Prolifération des lymphocytes T	
		PPD	SEB
5	1. HEDTISIMDOSLK	env 105-117	4320 ± 1500 14670 ± 4470
	2. SIMDQ (IS1)	env 110-114	5500 ± 1780 12330 ± 3280
10	3. SIMDOSIKPCVKITPL	env 110-125	6070 ± 1580 16760 ± 2530
	4. IRIORGPGRAF	env 312-320	12200 ± 2370 27180 ± 5360
	5. KQINMMQEVGKAMVA	env 429-440	6650 ± 1880 15130 ± 3430
15	6. CRIKQINMMQEVKAMY	env 423-447	5780 ± 2110 14210 ± 2770
	7. SSGDPEIYTHSFNC	env 369-383	14180 ± 2300 33360 ± 3460
20	8. gp120		3400 ± 1220 10230 ± 2710
	No peptide		15400 ± 1900 31990 ± 780

#### 25 EXEMPLE 3

On immunise des souris, comme dans l'exemple 1, par le peptide HEDTI (IS5) qui est adjacent à SIMDQ (IS1) dans le VIH-1 (séquence 105-109).

- 30 On utilise les anticorps de souris dans des expériences d'inhibition décrites à l'exemple 2 : on arrive à diminuer l'effet inhibiteur de la gp120 grâce à ces anticorps.

En effet, au lieu d'une inhibition de 80% en présence de 300 µg de gp120, on voit une inhibition de 35 seulement 50% en présence d'anticorps : ces anticorps diminuent l'effet suppresseur de la gp120.

30

5	Prolifération des lymphocytes T	
	PPD	SEB
gp120	3400	10230
gp120 + anticorps	8220	17450
10 témoin	15400	31900

EXEMPLE 4

Des tests ELISA ont été faits à partir des sera de 14 sujets séronégatifs (contrôle), 14 sujets infectés par le VIH-1 asymptomatiques, 14 sujets atteints de SIDA.

Les Densités optiques (D.O.) obtenues par ELISA ont été rapportées au sérum non dilué. Pour chaque groupe, la moyenne des réponses obtenues pour chaque peptide a été calculée. Le tableau suivant présente les rapports des moyennes obtenues pour les groupes des sujets infectés asymptomatiques ou SIDA sur les moyennes obtenues pour les séronégatifs.

On note les fortes réponses anticorps contre DIISLWDSIK (IS3) et contre TASQK (IS12) par rapport aux autres peptides.

31

PEPTIDES	ASYMPTOMATIQUES	SIDA
SSGDPEIVTHSFC (Env 365-383 VIH-1 LAI)	2.5	2
KAKRVYQREKRAVG (Env 505-519 VIH-1 LAI)	2.4	2.1
10 SIMDQ (IS1) (Env 101-117 VIH-1 LAI)	3.5	3
DIISLWDSIK (IS3) (Env 107-117 VIH-1 LAI)	20	11
15 NMQEVGKAMVA (Env 430-441 VIH-1 LAI)	1.9	1.5
20 TASQK (IS12) (CD4 17-21)	5	4

EXEMPLE 5 : Purification d'anticorps à spécificité anti-SLMDQ (IS1) et leur effet immunosuppresseur.

Les sérums des souris immunisées comme décrit à l'exemple 1 par les peptides IS 9 (ou IS10) est incubé avec des billes AFFIGEL 102 (Biorad) à concentration appropriée (par exemple 2 mg de peptide pour 1 mg de gel). On ajoute lors de l'éthanol acétate (agent couplant) et on amène alors le pH à 4,8. On laisse incubé 3 heures à la température ambiante, puis on centrifuge le tout 10 minutes. On rince le gel couplé obtenu en culot avec du PBS + NaCl à 0,01 %.

Une fois filtré, on peut éluer les anticorps fixés par du tampon acide citrique 0,1 M pH 3. On neutralise la fraction éluée en tampon Tris HCl à pH 9 et on concentre le tout par centrifugation à travers une colonne Centriscart (Seuil = 10 kD).

On vérifie le fort titre en anticorps anti (peptide IS9 ou IS 10) dans la fraction concentrée ainsi recueillie par ELISA.

En réalisant les mêmes expériences d'inhibition que celles décrites dans l'exemple 2 en utilisant ces



32

anticorps purifiés, on obtient une inhibition significative de la prolifération des lymphocytes T activés par les antigènes SEB ou PPD seulement pour les anticorps sélectionnés sur la colonne IS9 (peptide contenant SIMDQ (IS1)) et non pas sur les anticorps sélectionnés sur la colonne couplée avec le peptide IS10.

Les résultats (% d'inhibition) sont décrits dans le tableau suivant (en fonction de la dilution des anticorps) :

DILUTION	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
Anticorps anti IS 9	100 %	100 %	100 %	80 %	50 %
Anticorps anti IS 10	40 %	0 %	0 %	0 %	0 %

De la même façon on a purifié des anticorps anti-IS1 chez des sujets séronégatifs et des sujets séropositifs, infectés par le VIH-1.

Typiquement, pour un énat concentré final de volume 1 ml obtenu par filtration de 5 ml de sérum, les résultats d'inhibition (%) en fonction de la dilution de l'anticorps sont les suivants :

DILUTION	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
Anticorps de séropositif	100 %	100 %	100 %	90 %	50 %
Anticorps de séronégatif	90 %	30 %	0 %	0 %	0 %

On voit donc qu'il existe typiquement beaucoup plus d'anticorps suppressifs chez le sujet infecté que chez le sujet séronégatif.

33

EXEMPLE 6 : Inhibition de l'effet immunosuppressif des anticorps de patient infecté dirigés contre l'épitope SIMDQ (IS1) par un peptide contenant SIMDQ (IS1).

On réalise une expérience de suppression comme celle décrite dans l'exemple 5 avec des anticorps de sujets séropositifs purifiés sur une colonne couplée avec le peptide IS1 (SIMDQ), ces anticorps étant utilisés dilués au centième. Les résultats d'inhibition obtenus dans une expérience typique, montrent que le peptide (à concentration suffisante) peut neutraliser l'effet de l'anticorps sont donnés dans le tableau ci-après.

Quantité de peptide présent (en µg/ml)	10	20	40	60	100
Inhibition obtenue en présence d'anticorps suppressifs au 1/100e et de peptide	100 %	100 %	100 %	50 %	20 %

EXEMPLE 7 : Effet immunosuppressif des peptides CMH de classe II et des anticorps dirigés contre la région IS15.

Dans les mêmes expériences d'inhibition que celles décrites dans l'exemple 2, on obtient les résultats suivants avec des peptides dérivés du CMH de classe II, similaires ou non avec le VIH-1 :

5 **PEPTIDES** Prolifération des lymphocytes T mesurée par l'incorporation de thymidine tritiée

PPD SEB

10	1. RWFLNGQ	HALDP 167-173	12000	26000
	2. EETAGVVS	HLADP 174-181	5000	10000
	3. WVSTQLLNG	gp120 254-263	11000	22000
15	4. WVSTNLIRNG	HLA-DP 180-189	12000	23000
	5. FQILVML	HLA-DP 156-163	21000	44000
	Pas de peptide		23000	50000

20 De plus, les anticorps purifiés issus de sujets infectés par le VIH-1 et dirigés contre le peptide IS13 (VWSTQLLNG), ou issus d'animaux immunisés avec le peptide IS15 (EETAGVVS) et purifiés sur colonne couplée avec ce dernier ont aussi un effet suppresseur comme le montre le tableau suivant (pourcentage d'inhibition de la prolifération des cellules T) :

	1/25	1/50	1/100	1/150	1/200
Anticorps anti-IS13	100 %	90 %	60 %	30 %	0 %
Anticorps anti-IS15	100 %	100 %	100 %	80 %	40 %

30 **EXEMPLE 8** : Isolation d'un anticorps monoclonal humain à spécificité DIISLMDQSLK.

Des PBs d'individu infecté par le VIH-1 sont cultivées de manière standard (RPMI, FCS 10%, glutamine et antibiotiques) en présence du peptide DIISLMDQSLK ajouté en grande concentration (100 µg/ml). Au bout de quelques jours on ajoute à ces cellules un surnageant contenant de l'EBV qui

sert ainsi à transformer les cellules B présentes. Après quelques jours les cellules vivantes sont clonées dans des micropuits par la méthode des dilutions limites. Après expansion suffisante, les surnageants de ces puits sont testés ELISA pour la production d'anticorps reconnaissant le peptide DIISLMDQSLK (IS3). Les cellules dont le surnageant répond positivement sont clonées et testées à nouveau, après expansion, et donnant lieu ainsi à des lignées produisant des anticorps monoclonaux humains reconnaissant un peptide contenant IS1. Parmi ces anticorps certains sont suppresseurs dans l'expérience d'immunosuppression in vitro.

**EXEMPLE 9** : Isolation d'un anticorps monoclonal de souris à effet immunosuppresseur, de spécificité IS1.

Une souris est immunisée aux jours 0, 21, 45, 60, 15 avec 50 µg de gp120 dans de l'adjuvant incomplet de Freund. Au 80ème jour, la souris est sacrifiée et les cellules de sa rate sont isolées par dilacération. On procède alors comme indiqué à l'exemple 8 ci-dessus pour isoler des anticorps monoclonaux reconnaissant IS3. Parmi ces anticorps, certains sont immunosuppresseurs dans l'essai d'immunosuppression in vitro.

**EXEMPLE 10** : Préparation d'anticorps anti-idiotypiques.

On a immunisé des souris avec un anticorps monoclonal suppresseur préparé à l'exemple 9 ci-dessus comme suit : on purifie l'anticorps sur une colonne couplée avec le peptide IS3, on immunise aux jours 0, 21, 45, 60, 90 les souris avec 100 µg d'anticorps purifié ci-dessus dans de l'adjuvant incomplet de Freund. Les souris sont sacrifiées au jour 100. On récupère et filtre leur sérum sur une colonne couplée avec l'anticorps monoclonal utilisé pour l'immunisation. On élue et concentre les anticorps ainsi fixés. On réalise alors des ELISA qui montrent que ces anticorps reconnaissent les fragments Fab de l'anticorps monoclonal

purifiés. Ces anticorps ne reconnaissent pas les fragments Fab purifiés d'anticorps de souris immunisées par la toxine tétanique inactivée.

De plus ces anticorps inhibe l'effet suppresseur de l'anticorps monoclonal utilisé pour l'immunisation comme le montre l'expérience suivante :

En ajoutant ces anticorps anti-idiotypiques en quantité croissante dans le protocole d'immunosuppression de l'exemple 2 ci-dessus réalisé par l'anticorps monoclonal suppressif utilisé pour l'immunisation, on bloque la suppression induite par ce dernier.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Quantité d'anticorps anti-idiotypiques en µg/ml	0,1	1	10	100
% d'inhibition de la prolifération des cellules T	100 %	100 %	80 %	20 %

EXEMPLE 11 : Composition pharmaceutique.

On a préparé des ampoules injectables à reconstituer renfermant à titre de principe actif :

20 - anticorps monoclonal de l'exemple 9 lyophilisé 2 mg

EXEMPLE 12 : Composition pharmaceutique.

On a préparé des ampoules injectables à reconstituer renfermant à titre de principe actif :

- anticorps monoclonal de l'exemple 10 lyophilisé 1 mg

25 EXEMPLE 13 :

Réponse cellulaire tueuse contre certains peptides chez des malades infectés par le VIH-1.  
Des cellules mononucléées du sang de malades

(PBIs) sont cultivées pendant 1 semaine en présence du peptide stimulant : HEDISLMDQSLK, à la concentration de 10µg/ml dans du milieu RPMI sérum de veau foetal 10% supplémenté avec glutamine, antibiotique et IL2 de manière standard, (cellules effectrices : CE)

Après une semaine, on opère le test d'activité tueuse comme suit. On incube les CE avec des cellules autologues présentant le peptide cible à tester. Les cellules autologues sont préparées comme suit : ce sont des cellules B provenant du même malade et transformées par l'EBV. Ces cellules ont été préalablement incubées pendant une heure avec le peptide à tester (concentration 10µg/ml) pour pouvoir présenter le peptide testé aux cellules effectrices du malade. (ce sont les cellules cibles : CC). Ces cellules sont ensuite incubées avec du <sup>51</sup>Cr pendant une heure, puis lavées.

Pour effectuer le test de lyse 5000 CC sont mélangées pendant quatre heures avec des CE en proportion de 1/30, 1/10, 1/3 et 1/1. La quantité de chrome relarguée dans le surnageant est mesurée dans un compteur gamma et la lyse est calculée comme suit :

Lyse expérimentale (LE) - Lyse spontanée (IS)

Lyse totale (LT) - lyse spontanée

LE = taux de chrome obtenu dans le surnageant expérimental

IS = taux de chrome obtenu avec des CC sans CE

25 LT = taux de chrome obtenu par lyse totale des CC par l'acide chlorhydrique.

Les résultats obtenus montrent que l'épitope SLMDQ (IS<sub>1</sub>) est un épitope cible de la réponse immunitaire chez les sujets infectés par le VIH-1. Il en est de même pour 30 d'autres peptides contenant SLMDQ comme IS 46.

Dans la figure 1 montrant le pourcentage de lyse spécifique en fonction du rapport CE:CC, les peptides testés sont les suivants : P1=IS 6, P2= DMQIS (contrôle négatif), P3=IS 5, P4=IS 35, P5=IS 16, P6=IS 46, P7=IS 1, P8=contrôle positif de vaccine recombinante exprimant l'enveloppe gp160 35 du virus VIH-1 souche LAI.

38

Pour les séquences ci-dessous, les numérotations sont faites par rapport à la souche LAI ou bien HXB2 (G. Myers et al 1991).

- IS1) Peptide VIH-1 : enveloppe 110-114 (5 acides aminés)  
 5 IS2) Peptide CD4 : (CD4 65-69) (5 acides aminés)  
 IS3) Peptide donnant une réponse ELISA très forte chez les sujets infectés par le VIH-1 : enveloppe 107-117 (11 acides aminés)  
 IS4) Peptide adjacent à SLMDQ (IS1) : enveloppe 115-125 (11 acides aminés)  
 10 IS5) Peptide VIH-1 : enveloppe 105-109, adjacent à SLMDQ (IS1) (5 acides aminés)  
 IS6) Peptide homologue à SLMDQ (IS1) où le W a été changé en V (5 acides aminés). Ce peptide perd de son activité inhibitrice dans le test de suppression.  
 15 IS7) Peptide VIH-1 contenant SLMDQ : enveloppe 105-114 (10 acides aminés).  
 IS8) Peptide contenant à la fois une partie active de l'enveloppe pour la liaison avec le CD4 (voir exemple 2) et le peptide IS7 suppresseur, séparés par des résidus intermédiaires, par exemple GCG (Enveloppe (426-441) et Enveloppe (105-107) :
- KQIIMMQEVGKAMVAGGHEDISLMDQSLK  
 IS9) Peptide VIH-1 : Enveloppe 105-117 (13 acides aminés)  
 25 HEDISLMDQSLK  
 IS10) Peptide homologue à la région adjacente de SLMDQ dans gp120 (résidus 105-109 : peptide IS5 cité ci-dessus) :
- HEDLQ  
 IS11) Peptide situé au voisinage du site SLMDQ (IS1) dans la molécule CD4 (résidus 52-60)  
 30 NDRADSRRS  
 IS12) (CD4 17-21) (5 acides aminés)  
 IS13) Séquence de haute similitude du VIH-1 avec le CMH de classe II :
- 35 VVSTQLIANG (résidus 254-263, env VIH-1)

39

IS14) Séquence de haute similitude du CMH de classe II .  
 Chaîne  $\beta$  avec la gp120 de VIH-1 :

- VVSTNLIRNG (résidus 179-188 de HLA-DP)  
 IS15) Séquence du CMH de classe II (HLA-DP) hautement suppressive, située dans la région du CMH exposée :  
 5 EETAGVVS (résidus 174-181)  
 IS16) Séquence du CMH de classe II qui est exposée d'après notre modélisation et qui contient des peptides CMH immuno-suppressifs :
- 10 FLNGQDETAGVSTN (résidus 169-183 de HLA-DP)  
 IS17) Peptide issu de CD4 contenant le site SLMDQ (IS1) et pour lequel les taux de réponse ELISA sont très élevés chez les sujets infectés par rapport au sujets non infectés :  
 ADSRSLMDQGNPPL (résidus 55 à 69).  
 15 IS18) Peptide HLA-DP (résidus 193-199) situé au voisinage de la région active définie par le peptide IS16 :
- FQILMV  
 IS19) Peptide HLA-DP (résidus 156-163) situé au voisinage de la région active définie par le peptide IS16 :
- 20 VTDFYFGS  
 IS20) Peptide HLA-DP (résidus 167-173) situé au voisinage de la région active définie par le peptide IS16 :
- RWFLNGQ  
 IS21) Peptide CD4 (résidus 65-73) situé au voisinage du peptide SLMDQ (IS1)  
 25 GNFPILIKNL  
 IS22 : VEINCTRPNN (résidus 297-306 de gp120, de VIH-1 souche LAI)  
 IS23 : VEINCTRTQN (résidus 99-108 de la protéine Fas).  
 30 IS24 : FYCNST (résidus 388-393 de VIH-1 gp120, souche LAI)  
 IS25 : FFCNST (résidus 117-122 de la protéine Fas)  
 IS26 : CNSTV (résidus 119-123 de la protéine Fas)  
 IS27 : YVGSDLLEI (résidus 355-362 de poi de VIH-1, souche LAI)  
 35 YVGSNLEI (résidus 27-34 du récepteur haute affinité, aux IGE)

40

- IS29 : PLTEEA (résidus 461-466 de pol de VIH-1, souche LAI)  
IS30 : QGQMTYQ (résidus 501-507 de pol de VIH-1, souche LAI)  
IS31 : QGQMTYQ (résidus 350-356 de ELAM-1)  
5 IS32 : RSGVETTPSQK (résidus 476-487 de Gag, souche LAI)  
IS33 : RAGVETTPSKQ (résidus 179-190 de la chaîne légère lambda des immunoglobulines)  
IS34 : EALKYK (résidus 796-801 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
10 IS35 : SLKPCVK (résidus 115-121 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS36 : HEDISL (résidus 105-111 de gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS37 : VEINCTR (résidus 99-105 de la protéine Fas)  
15 IS38 : VEIDCSR (peptide IS37 modifié)  
IS39 : FYCDS (peptide IS24 modifié)  
IS40 : HEDISLVDQSLK (peptide IS9 modifié)  
IS41 : DIISLMDQDIISLMDQ (résidus 107-114 de gp120 de VIH-1, souche LAI, dimère)  
20 IS42 : DIISLMDQSLKDIISLMDQSLK (peptide IS3 dimérisé)  
IS43 : RADSRSLMDQRADSRSLMDQ (peptide 54-64 de CD4, dimère)  
IS44 : SLMDQSLMDQ (peptide IS1 dimérisé)  
IS45 : SLMDQSLMDQSLMDQSLMDQ (peptide IS1, quadrimérisé)  
25 IS46 : HEDISLMDQSLKPCVK (résidus 105-121, gp120 de VIH-1, souche LAI)  
IS47 : KQIINMQEIVGKANYAGGHEDISLMDQSLKPCVK (peptide contenant à la fois une partie active de l'enveloppe pour la liaison avec le CD4 et le peptide IS46 supprimé)  
30 IS48 : RSGVETTPS (résidus 476-485 de Gag de VIH-1 souche LAI)  
IS49 : RAGVETTPS (résidus 179-188 de la chaîne légère lambda des immunoglobulines)  
35 IS50 : EETAGVSTN (résidus 174-183 de CHL, DP)  
IS51 : SLMDQSLKP (résidus 110-118 de gp120 VIH-1 souche

41

LAI).  
IS52 : INCTR (résidus 101-105 de la protéine Fas, communs avec la protéine gp120 de VIH-1)

42

## LISTE DE SEQUENCES

43

(D) CONFIGURATION: linéaire

## (1) INFORMATION GENERALE:

## (i) DEPOSANT:

- 5 (A) NOM: ZAGURY JEAN-FRANCOIS  
(B) RUE: 117 RUE VIEILLE DU TEMPLE  
(C) VILLE: PARIS  
(E) PAYS: FRANCE  
(F) CODE POSTAL: 75003

- (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:  
Ser Leu Trp Asp Gln  
5 1 5

10 (ii) TITRE DE L'INVENTION: Nouveaux peptides, anticorps  
dirigés contre ces peptides, moyens de blocage de ces  
anticorps, application a titre de médicaments, compositions  
pharmaceutiques et méthodes d'utilisation.

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 51

- (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 2:  
(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire  
10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

15

## (iv) FORME LISIBLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: floppy disk  
(B) ORDINATEUR: IBM PC compatible  
(C) SYSTEME D'EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS  
(D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.25  
20 (OEB)

- (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:  
Gly Asn Phe Pro Leu  
15 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 3:

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 1:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 25 (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 20 (A) LONGUEUR: 11 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

44

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys  
1 5 10

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 11 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

10 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu  
1 5 10

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 5 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

20 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

45

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

His Gln Asp Ile Ile  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 6:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 5 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

Ser Leu Val Asp Gln  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 7:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 10 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

46

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 5 (A) LONGUEUR: 32 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys Ala Met  
Tyr Ala  
1 5 10  
15

15 Gly Gly Gly His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser  
Leu Lys  
20 25 30

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 9:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 13 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

47

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys  
1 5 10

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 10 (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

His Glu Asp Leu Gln  
1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 20 (A) LONGUEUR: 9 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide



48

(xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 11:

Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 12:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 12:

Thr Ala Ser Gln Lys  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 13:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 13:

49

Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 14:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

10 (xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 14:

Val Val Ser Thr Asn Leu Ile Arg Asn Gly -  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 15:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 8 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

20 (xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 15:

Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser  
1 5

50

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 16:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 15 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 16:

10 Asn Phe Leu Asn Gly Gln Gln Gln Thr Ala Gly Val Val Ser Thr  
15 1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 17:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 15 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 17:

20 Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gln Phe Pro  
Leu  
1 5 10

51

15

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 18:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 18:

10 Phe Gln Ile Leu Val Met Leu  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 19:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 8 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 19:

20 Val Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Ser  
1 5

52

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 20:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 20:

10 Arg Tyr Phe Leu Asn Gly Gln  
1 5

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 21:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 21:

20 Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile Lys Asn Leu  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 22:

53

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 22:

10 Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 23:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 23:

20 Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn  
1 5 10

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 24:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés

54

- (B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

5 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 24:

Phe Tyr Cys Asn Ser Thr  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 25:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 10 (A) LONGUEUR: 6 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

15 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 25:

Phe Phe Cys Asn Ser Thr  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 26:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 20 (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple

55

- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 26:

Cys Asn Ser Thr Val  
5 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 27:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 10 (A) LONGUEUR: 8 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 27:

Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile  
15 1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 28:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 20 (A) LONGUEUR: 8 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

56

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 28:

Tyr Val Gly Ser Asn Leu Gln Ile  
1 5

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 29:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 29:

Pro Leu Thr Gln Ala Ala  
1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 30:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20

57

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 30:

Gln Gly Gln Trp Thr Tyr Gln  
1 5

5 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 31:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 31:

Gln Gly Gln Trp Thr Gln Gln  
1 5

15 (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 32:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

20

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

58

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 32:

Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 33:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 33:

Arg Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 34:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 6 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

20 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 34:

59

Glu Ala Leu Lys Tyr Trp  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 35:

5 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 35:

Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys  
1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 36:

15 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 7 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

20 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 36:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu  
1 5

60

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 37:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 7 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

61

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 6 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(X1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 39:

Phe Tyr Cys Asp Ser Ser

1 5

10

Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg

1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 38:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 7 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 40:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 13 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(X1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 38:

Val Glu Ile Asp Cys Ser Arg

1 5

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 39:

(X1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 40:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Val Asp Gln Ser Leu Lys

1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 41:

62

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 16 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 41:

Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Asp Ile Ile Ser Leu Trp  
Asp Gln  
10 1 5 10  
15

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 42:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 22 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 42:

Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Asp Ile Ile  
Ser Leu  
1 5 10  
15

63

## Trp Asp Gln Ser Leu Lys

20

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 43:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 22 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 43:

Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Arg Ala Asp  
Ser Arg  
1 5 10  
15  
15 Arg Ser Leu Trp Asp Gln  
20

## (2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 44:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide



64

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 44:

Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp Gln  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 45:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 20 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

10 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 45:

Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Trp Asp  
Gln Ser  
1 5 10

15 15

Leu Trp Asp Gln

20

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 46:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 17 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

20

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

65

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 46:

His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro  
Cys Val  
1 5 10

5 15

Lys

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 47:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 35 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

10

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 47:

Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys Ala Met  
Tyr Ala  
1 5 10

15

Gly Gly His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu  
Lys Pro  
20 25 30

20

25

30

Cys Val Lys

35 66

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 48:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 5 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(x1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 48:

10 Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 49:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 15 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(x1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 49:

20 Arg Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser  
1 5 10

67

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 50:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 5 (A) LONGUEUR: 10 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(x1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 50:

10 Glu Glu Thr Ala Gly Val Val Ser Thr Asn  
1 5 10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 51:

(1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 15 (A) LONGUEUR: 9 acides aminés  
(B) TYPE: acide aminé  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(x1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 51:

20 Ser Leu Trp Asp Gln Ser Leu Lys Pro  
1 5

68

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 52:

## (1) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 5 acides aminés  
 (B) TYPE: acide aminé  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

## (11) TYPE DE MOLECULE: peptide

(X1) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 52:

10 Ile Asn Cys Thr Arg  
 1 5

69

REVENDICATIONS

1. Peptide monomère reconnu par une réponse immunitaire humorale ou cellulaire et produisant une réaction auto-immune chez les sujets infectés par VIH-1 ou 2, caractérisé en ce qu'il est choisi dans le groupe constitué par
 

SLMDQ (IS N°1)  
 SLMDOSIK (IS N°51)  
 DIISLMDOSIK (IS N°3)  
 HEDISLMDOSIKPCVK (IS N°46)  
 VEINCTRR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>N (R<sup>1</sup>=T ou P, R<sup>2</sup>=N ou Q) (IS N°22 et 23)  
 FR<sup>2</sup>CNSD (R<sup>2</sup>=Y ou F) (IS N°24 et 25)  
 YVGSR<sup>3</sup>LEI (R<sup>3</sup>=D ou N) (IS N°27 et 28)  
 PLTEEA (IS N°29)  
 OGQWTR<sup>4</sup>Q (R<sup>4</sup>=Y ou Q) (IS N°30 et 31)  
 RR<sup>5</sup>GVEITPS (R<sup>5</sup>=S ou A) (IS N°48 et 49)  
 EALKYW (IS N°34)  
 CNSTV (IS N°26)  
 EETAGVVSSTN (IS N°50)  
 VVSTNRIRNG (IS N°14)  
 VEINCTR (IS N°37)  
 INCTR (IS N°52)
2. Peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que le monomère d'origine est viral ou provient d'une molécule immunorégulatrice.
3. Peptide, fragment de protéine ou protéine renfermant un peptide selon la revendication 1 caractérisé en ce que ledit peptide est modifié par déletion, addition ou modification d'un ou plusieurs acides aminés pour perdre son caractère d'épitope chez les sujets infectés par VIH-1 ou VIH-2.
4. Peptide comportant de 5 à 20 acides aminés, caractérisé en ce qu'il est d'origine virale, en ce qu'il est

70

adjacent à un des peptides définis à la revendication 1 dans la séquence virale, et en ce que, du côté C terminal ou N terminal, il chevauche 1 ou 2 acides aminés d'un peptide défini à la revendication 1 ou 2.

5 5. Anticorps caractérisé en ce qu'il reconnaît l'un au moins des peptides tels que définis à l'une des revendications 1 et 2.

6. Anticorps antidiotypiques dirigés contre 1'un au moins des anticorps définis à la revendication 5.

10 7. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des peptides définis à la revendication 1 ou 2.

8. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des peptides définis à la revendication 3.

9. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des peptides définis à la revendication 4.

10. Médicaments caractérisés en ce qu'ils renferment à titre de principe actif 1'un au moins des anticorps définis à la revendication 5 ou 6.

11. Méthode de lutte contre le VIH-1 ou 2 par induction d'une tolérance du sujet traité vis-à-vis des peptides définis à la revendication 1, caractérisé en ce que 25 1'on administre à un malade

- soit un peptide défini à la revendication 1 ou
- soit un fragment de protéine contenant ce peptide
- soit une protéine entière contenant ce peptide.

12. Méthode d'induction de la suppression immunitaire chez un sujet dans laquelle 1'on administre un peptide selon 30 la revendication 1 comprenant la séquence SLMDQ, la séquence EETAGVVSIN ou la séquence VYSTNLIRNG.

13. Méthode de vaccination dans laquelle 1'on administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, 35 fragment de protéine ou protéine défini à la revendication 3.

14. Méthode de vaccination dans laquelle 1'on

71

administre, à titre de principe actif immunogène un peptide, fragment de protéine ou protéine défini à la revendication 4.

15. Méthode d'induction d'un état d'immuno suppression dans lequel on administre par voie parentérale 1'un au moins des anticorps définis à la revendication 5.

16. Méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 2 dans laquelle 1'on administre sous forme immunogénique 1'un au moins des anticorps définis à la revendication 5.

17. Méthode de lutte contre l'infection à VIH-1 ou 10 2 dans laquelle 1'on administre par voie parentérale 1'un au moins des anticorps définis à la revendication 6.

1/1

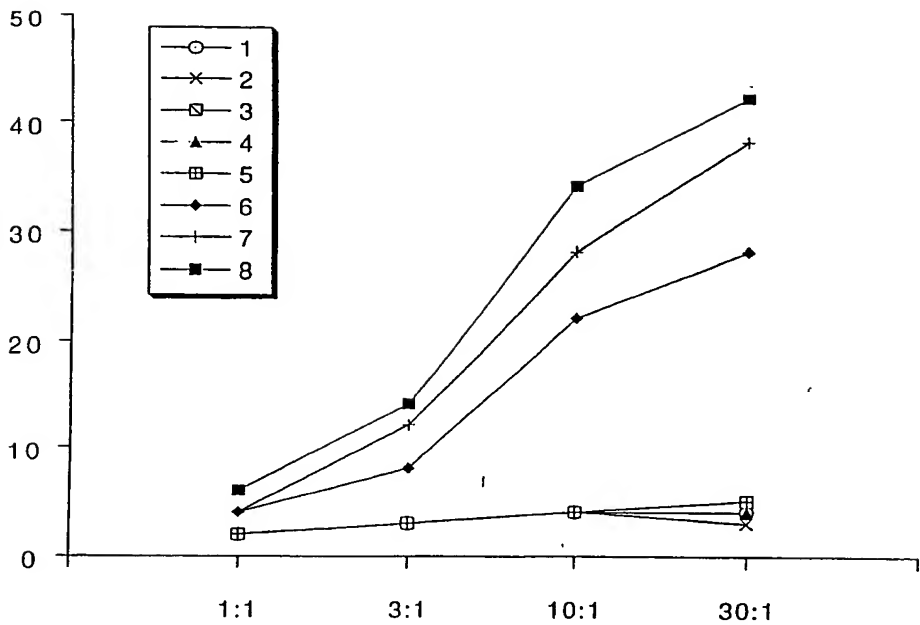


FIGURE 1

2

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 5 CO7K/06 CO7K/08 CO7K15/06 A61K37/02 A61K39/42 A61K39/21 CO7K15/00	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 5 CO7K A61K	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Examinee data base consulted during the international search (name of data base used, where practical, search terms used)	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category * X JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY vol. 72, no. 8, August 1991, COLCHESTER, GRANDE BRETAGNE pages 1913 - 1918 C. ORVEILL ET AL. 'Immunological characterization of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase protein by the use of monoclonal antibodies.' see abstract 3	Relevant to claim No. 1-3, 5, 15, 16
Further documents are listed in the continuation of box C.	
Patent family members are listed in annex.	
Special categories of cited documents: * document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance * earlier document that published on or after the international filing date * document which may have priority claim(s) or which may have priority claim(s) or other special reason (as specified) * document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means * document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 9 December 1993	Date of mailing of the international search report 19. 01. 94
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 3818 Parisian 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 346 2040, Tx. 31 631 gpo nl Fax (+31-70) 346 2016	Authorized officer Nooij, F

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

date of Application No  
PCT/FR 93/00803

date of Application No  
PCT/FR 93/00803

Category	Documents considered to be relevant	Relevant to claim No.
X	WO, A, 90 03984 (REPLIGEN CORPORATION) 19 April 1990  see page 8, line 10 - line 12 see page 8, line 31 - line 32 see page 9, line 6 - line 7 see example 22 see claims	1-3, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 15, 16
X	THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION vol. 88, no. 3, September 1991, NEW YORK, ETATS-UNIS pages 876 - 884 J. BERZOFKY ET AL. 'Construction of peptides encompassing multideterminant clusters of human immunodeficiency virus envelope to induce in vitro T cell responses in mice and humans of multiple MHC types.' see abstract see table 1	1-4, 7-9, 12-14
X	SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 35, no. 3, March 1992, OXFORD, GRANDE BRETAGNE pages 267 - 273 M. ZAITSEVA ET AL. 'Antibodies to MHC class II peptides are present in HIV-1-positive sera.' see abstract see table 2 see page 272, right column, line 4 - line 16	1, 2, 5, 6, 15-17
A	EP, A, 0 344 006 (ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION) 29 November 1989  see claims	1, 2, 5-7, 10, 11, 15-17
A	WO, A, 90 00566 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 25 January 1990  see claims	1, 3
A	JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE vol. 167, no. 3, 1 March 1988, NEW YORK, ETATS-UNIS pages 914 - 923 H. GOLDING ET AL. 'Identification of homologous regions in human immunodeficiency virus 1 gp41 and human MHC class II-beta-1 domain. I. Monoclonal antibodies against the gp41-derived peptide and patients' sera react with native HLA class II antigens,...etc.' see abstract	1, 2, 5


Form PCT/ISA/210 (publication of second sheet) (July 1992)

Category	Documents considered to be relevant	Relevant to claim No.
P, X	BIOMEDICINE AND PHARMACOTHERAPY vol. 47, 1993, PARIS, FRANCE pages 93 - 99 J. ZAGURY ET AL. 'HIV-1-induced immune suppression may result from autoimmune disorders including anti-SLMOQ autoantibodies.' see the whole document	1-5, 7-16

Form PCT/ISA/211 (publication of second sheet) (July 1992)

## International application No. 83/005040

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 11-17 are directed to a method of treatment of (diagnostic method practised on) the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. ☐ **Claims Nos.:** because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 1992)

PATENT DOCUMENT INFORMATION				Index	and Application No
Information on patent family members				PCT/FR 93/00803	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO-A-9003984	19-04-90	AU-B-640619 AU-A-4403689 EP-A-0436634 JP-T-4502760	02-09-93 01-05-80 17-07-91 21-05-92		
EP-A-0344006	29-11-89	AU-B-626865 AU-A-3526689 JP-A-2131497	13-08-92 30-11-89 21-05-90		
WO-A-9000566	25-01-90	NONE			

Form PCT/ISA/210 (pages 1 (only) number) (July 1972)

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 5 C07K/06 C07K/08  
A61K39/21 C07K15/00A61K37/02 A61K39/42  
CIB 5 C07K A61K

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation mondiale consultée (système de classification autre que l'indice de classement)

CIB 5 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Bases de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cet est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie 1 Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents

no. des revendications visées

X JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY  
vol. 72, no. 8, Août 1991, COLCHESTER,  
GRANDE BRETAGNE  
pages 1913 - 1918  
C. ORVILL ET AL. 'Immunological  
characterization of the human  
immunodeficiency virus type 1 reverse  
transcriptase protein by the use of  
monoclonal antibodies.'  
voir abrégé  
voir tableau 31-3,5,  
15,16

-/-

X Voir la suite du cadre C pour la fin de la base des documents

X Les documents de famille de brevets sont indiqués en abrégé

\* Catégories spéciales de documents cités

A\* document décrivant l'état général de la technique, non

E\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

T\* document décrivant une invention particulière

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie 1 Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents

no. des revendications visées

X WO, A, 90 03984 (REPLIGEN CORPORATION) 19  
Avril 19901-3,5,7,  
8,10,11,  
13,15,16voir page 8, ligne 10 - ligne 12  
voir page 8, ligne 31 - ligne 32  
voir page 9, ligne 6 - ligne 7  
voir exemple 22  
voir revendicationsX THE JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION  
vol. 88, no. 3, Septembre 1991, NEW  
YORK, ETATS-UNIS1-4,7-9,  
12-14pages 876 - 884  
J. RENZOFESKY ET AL. 'Construction of  
peptides encompassing multiepitope  
clusters of human immunodeficiency virus  
envelope to induce in vitro T cell  
responses in mice and humans of multiple  
MHC types.'  
voir abrégé  
voir tableau 1X SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY  
vol. 35, no. 3, Mars 1992, OXFORD,  
GRANDE BRETAGNE1,2,5,6,  
15-17pages 267 - 273  
M. ZAITSEVA ET AL. 'Antibodies to MHC  
class II peptides are present in  
HIV-1-positive sera.'  
voir abrégé  
voir tableau 2  
voir page 272, colonne de droite, ligne 4  
- ligne 16X EP, A, 0 344 006 (ORTHO PHARMACEUTICAL  
CORPORATION) 29 Novembre 19891,2,5-7,  
10,11,  
15-17

voir revendications

X WO, A, 90 00566 (THE REGENTS OF THE  
UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 25 Janvier 1990

1,3

voir revendications

X JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE  
vol. 167, no. 3, Mars 1988, NEW YORK,  
ETATS-UNIS

1,2,5

pages 914 - 923  
H. GOLDING ET AL. 'Identification of  
homologous regions in human  
immunodeficiency virus 1 gp41 and human  
MHC class II-beta-1 domain. 1. Monoclonal  
antibodies against the gp41-derived  
peptide and patients' sera react with  
native HLA class II antigens....etc.'  
voir abrégé

-/-

2

Formulaires PCT/DA/201 (suite de la demande nationale) (juillet 1992)



Classes DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Doc. des revendications visées
Caractères	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	
P, X	BIOMEDICINE AND PHARMACOTHERAPY vol. 47, 1993, PARIS, FRANCE pages 93 - 99 J. ZAGURY ET AL. 'HIV-1-induced immune suppression may result from autoimmune disorders including anti-SLMO autoantibodies.' voir le document en entier -----	1-5, 7-16

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(Article 1) (Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (feuille du point 1 de la première feuille))

Conformément à l'article 17(2a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n'ont pas été prises en compte par l'administration nationale en ce qui concerne la recherche, à savoir: se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration nationale n'a pas procédé à la recherche, à savoir: Bien que les revendications 11-17 concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.

2. ☐ Les revendications n'ont pas été prises en compte par l'administration nationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions précitées pour se rapporter à des phases de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions précitées pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

1. ☐ Les revendications n'ont pas été prises en compte par l'administration nationale en ce qui concerne la recherche, à savoir: se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration nationale n'a pas procédé à la recherche, à savoir: Bien que les revendications 11-17 concernent une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition.

(Article 11) (Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (feuille du point 2 de la première feuille))

1. ☐ L'administration nationale a refusé de poursuivre la recherche internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les revendications ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les revendications ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

3. ☐ Comme une partie seulement des revendications a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°:

4. ☐ Aucune taxe supplémentaire demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention immédiatement en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°:

Remarque quant à la réserve ☐ Les taxes supplémentaires étaient accompagnées d'une erreur de la part du déposant. ☐ Le paiement des taxes supplémentaires n'est pas assorti d'aucune restriction.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9003984	19-04-90	AU-B- 640619 AU-A- 4403689 EP-A- 0436634 JP-T- 4502760	02-09-93 01-05-90 17-07-91 21-05-92
EP-A-0344006	29-11-89	AU-B- 626865 AU-A- 3526689 JP-A- 2131497	13-08-92 30-11-89 21-05-90
WO-A-9000566	25-01-90	AUCUN	

Publication PCT/DA/218 (suite des familles de brevets) (suite 1/172)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**